

بررسی ترکیبات شیمایی اسانس بذر سه گیاه دارویی بومی استان یزد (زیره سیان، زیره سیاه و زنیان) و مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی آنها

فاطمه حقیرالسادات^۱، مریم اژدری^{۲*}، فاطمه عروجعلیان^۳، میثم امیدی^۴، مصطفی عظیم زاده^۵

چکیده:

مقدمه: از مهمترین گیاهان دارویی خانواده چتریان در ایران، زیره سیاه، زیره سبز و زنیان می‌باشد که در مناطق مختلفی از رویشگاه‌های طبیعی استان یزد به چشم می‌خورد. در این مطالعه به بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس بذر و مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی این سه گیاه پرداخته شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی، تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گرفت. بذور جمع‌آوری شده به روش تقطیر با آب اسانس گیری شدند. جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس بذر به روش تخریب رادیکال‌های آزاد (DPPH) سنجیده و برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش Follin-Ciocalteu استفاده شد.

نتایج: مهمترین ترکیبات در زیره سیاه گاماترپینن، کومین آلدئید و پاراسیمن و در زیره سبز، پروپانل، بنزن متانول، ۱- فنیل ۱- بوتانل و گاماترپینن و در زنیان تیمول، گاماترپینن، سایمن و بتا پنین بود. نتایج به دست آمده از غلظت‌های مؤثر مختلف از اسانس سه گیاه نشان داد که در زیره سیاه، زنیان و زیره سبز به ترتیب ۲/۸۵، ۰/۷۱۱ و ۱/۴۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان ترکیبات فنولی ۱۱۷/۰۹، ۱۶۲/۶۲ و ۹۰/۲۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم است. نتیجه‌گیری: زنیان دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و زیره سیاه دارای کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. بیشترین ترکیبات فنولی به ترتیب در زیره سیاه، زنیان و زیره سبز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: زیره سیاه، زیره سبز، زنیان، ترکیبات مؤثره اسانس، تست آنتی‌اکسیدان

۱-۳-۵- دانشجوی دکتری تخصصی نانو بیوتکنولوژی، دانشکده علوم فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۳۵۱۸۲۱۹۱۹۶، پست الکترونیکی: azhdari_mar@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۶

مقدمه

از دوران‌های قدیم انسان برای رفع نیازهای خود مثل خوراک، پوشاک و سرپناه از طبیعت استفاده می‌کرده است. یکی از حلقه‌های ارزشمند زندگی انسان‌ها، گیاهان می‌باشند (۱). کشت و کار گیاهان به‌ویژه گیاهان دارویی از دیرباز مورد توجه بوده است. تاکنون حدود ۵۰ هزار گونه گیاه دارویی برآورد شده است که ۸٪ آنها یعنی حدود ۴۱۶۰ گونه، در معرض خطر انقراض قرار دارند. واژه گیاهان دارویی بیش از یک تعریف دارد که عمومی‌ترین آن به گیاهانی گفته می‌شود که دارای خاصیت معطر و یا درمانی می‌باشند (۱). استفاده دارویی از گیاهان قدمت تاریخی داشته و هزاران سال است که توسط انسان مصرف می‌شود. اولین مستندات درمان با گیاهان دارویی بر اساس یافته‌های باستان شناسی مربوط به ۲۶۰۰ سال قبل از میلاد است و به تمدن بین‌النهرین برمی‌گردد که در لوح‌های رسی با خط میخی پیدا شده است. از گیاهان متداول در آن دوره می‌توان از سدر (Cedrus)، سرو (Cupress)، شیرین‌بیان (Glycyrrhizaglabra) و خشخاش (Paparersomniferum) نام برد که هنوز هم به طور گسترده از آنها در درمان بیماری‌هایی مثل سرماخوردگی، عفونت و التهاب استفاده می‌شود. کشور ایران با دارا بودن ۱۱ اقلیم از ۱۳ اقلیم جهان و تنوع شرایط جغرافیایی و آب و هوایی، زمینه رشد بیش از ۱۱ هزار گونه گیاهی را فراهم آورده است که حدود ۱۰-۸ درصد آنها دارای اثرات دارویی هستند. ۲۵۰-۳۰۰ گونه آن نیز از چندین هزار سال پیش استفاده دارویی داشته‌اند (۱).

امروزه مقادیر زیادی از داروهایی مصرفی در دنیا به‌صورت مصنوعی تولید می‌شوند ولی حدود ۶۰٪ از کل احتیاجات دارویی، توسط جمع‌آوری از منابع طبیعی گیاهی تأمین می‌گردد. طبق برآوردی که توسط سازمان بهداشت جهانی صورت گرفته است، بیش از ۸۰ درصد مردم جهان (نزدیک به ۵ میلیارد نفر)، برای درمان بیماری‌ها از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند. هم اکنون حدود ۲۵٪ از داروهای تهیه شده در دنیا، مستقیماً از گیاهان عصاره‌گیری شده‌اند و یا حاوی

حداقل یک ترکیب فعال گیاهی هستند (۱). کشور آمریکا بزرگترین وارد کننده گیاهان دارویی می‌باشد. کار بر روی طب سنتی و استفاده از گیاهان دارویی، در سراسر جهان و به خصوص هند، چین، ژاپن، ایران، پاکستان، سریلانکا و تایلند در دست انجام می‌باشد (۱).

زیره سیاه، زیره سبز و زنیان بومی از خانواده چتریان می‌باشد (۲). زیره سیاه یکی از پرقدمت‌ترین گیاهان دارویی در جهان می‌باشد. قدیمی‌ترین زیره جهان در شهر سوخته استان سیستان و بلوچستان کشف شده است (۱،۳). زیره سیاه، گیاه چندساله و خودگشن است که با نام علمی *Bunium Persicum Boiss* معروف بوده و در زبان انگلیسی *Black Caraway* نامیده می‌شود. زیستگاه طبیعی این گیاه در سطح جهان، آسیای مرکزی، غربی، اروپای جنوب شرقی و در گستره ایران، استان‌های تهران، قزوین، کرمان، خراسان، بندرعباس، اصفهان، فارس، سمنان و یزد است (۴،۵،۱۰،۲). درمان زخم معده، درمان شکستگی استخوان، بر طرف کردن نفخ شکم، تب‌بر، کاهش چربی و کلسترول خون، ضدآلرژی و کاهش قندخون از خواص دارویی مهم این گیاه می‌باشد. اسانس زیره سیاه خاصیت ضدکاسایشی داشته و در طعم دهنده‌های غذا، نوشابه، شکلات و پنیر استفاده می‌شود. همچنین در بعضی مناطق آن را به صورت ادویه، چاشنی غذا و حتی در بعضی مناطق هندوستان از ریشه آن به عنوان سبزی استفاده می‌کنند (۱۳-۶).

زیره سبز جز گیاهان دارویی مهم و اقتصادی کشورمان به شمار می‌رود که گسترش نسبتاً وسیعی در مناطق مختلف خصوصاً مناطق کوهستانی استان یزد دارد (۱۶-۵،۱۴).

زیره سبز، گیاهی است علفی یکساله، ظریف و معطر (۲) که با نام علمی *Cuminumcyminum L* معروف بوده و دارای نام‌های دیگری چون کمون، سنوت می‌باشد (۱۹-۱۷). در مناطق مدیترانه‌ای و جنوب غرب و مرکز آسیا وجود دارد، زیره سبز احتمالاً از مصر منشاء گرفته ولی در سایر نقاط به صورت کاشته شده و نیمه خودرو یافت می‌شود (۶). این گیاه در تبریز، یزد و کرمان کشت می‌شود (۱۶). از زیره سبز در درمان

در مطالعه‌های Nikavar و همکاران با استفاده از بذرها ۷ گیاه دارویی خانواده چتریان از جمله زیره سبز، سیاه و گیاه زنیان به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی آنها پرداختند و نشان دادند، مقادیر IC₅₀ در این ۳ گونه به ترتیب ۲۰۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۴۹/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱۲۶/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد، همچنین TFC در این گونه‌ها (مقدار کل ترکیبات فنولی) به ترتیب ۲۰/۲۱ میکروگرم بر میلی‌گرم، ۵۶/۹۲ میکروگرم بر میلی‌گرم و ۴۰/۱۸ میکروگرم بر میلی‌گرم می‌باشد (۳۶).

از مهمترین گیاهان دارویی خانواده چتریان در ایران، زیره سیاه، زیره سبز و زنیان می‌باشد و رویشگاه طبیعی آنها در مناطق مختلفی از استان یزد است. از اینرو این سه گیاه را انتخاب کرده و به بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس بذر و مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی پرداخته شد. هدف از انجام این پژوهش شناسایی و جمع‌آوری سه گونه دارویی پر اهمیت استان یزد شامل زیره سیاه، زیره سبز و زنیان و همچنین تفکیک و تعیین ترکیبات مؤثره تشکیل‌دهنده اسانس سه گیاه و بررسی و مقایسه خواص آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه برای هر گیاه، بذرها جمع‌آوری شده از منطقه خرائق استان یزد در تابستان ۱۳۸۸ به آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد منتقل و برای اسانس‌گیری مورد استفاده قرار گرفت.

اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و به وسیله دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت برای هر ۱۰۰ گرم نمونه بذر آسیاب شده به همراه ۲۵۰ سی‌سی آب صورت گرفت. اسانس گیاه، بی‌رنگ یا مایل به قهوه‌ای و بویی شبیه بوی تیمول می‌باشد.

جداسازی و شناسایی ترکیبات هر گیاه با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی (GC/MS) انجام شد. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس هر گیاه با استفاده از اندیس بازداری و بررسی طیف‌های جرمی ترکیب‌ها و مقایسه آنها با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های کامپیوتری و

بیماری‌های مختلف به عنوان ضد تشنج، ضد صرع، تقویت‌کننده معده، ادرار آور، ضد نفخ و سوء هاضمه محرک تعریق استفاده می‌شود و به وجود آمدن قاعدگی را در هر دوره آن تسریع می‌کند. در نزله‌های حاد و مزمن برونش‌ها، نفخ ناشی از سوء هاضمه، درمان ترشحات زنانگی و قطع حالت قاعدگی در زنان جوان اثرات مفیدی دارد (۲۵-۲۰). میوه زیره سبز حاوی ۵-۲ درصد اسانس است که قسمت اعظم آن از پاراسیمول، آلفا و بتا - پی‌نن، کومیک الکل، کومیک آلدهید، آلفا و بتا فلاندرن، اوژنول، پریرال‌آلدهید، آلفا - ترپینئول، میرسن تشکیل یافته است، علاوه بر آن در زیره سبز ۷/۷ درصد روغن، ۱۳/۵ درصد رزین، ۸ صمغ و موسیلاژ و ۱۵/۵ درصد پروتئین یافت می‌شود (۲۲).

گیاه زنیان، گیاه علفی و بدون کرک و معطرو با ساقه افراشته است (۲۸-۱۶،۲۶) که به صورت خوراکی به عنوان ضد درد، ضد آسم، ضد تهوع و خلط‌آور و به صورت موضعی در درمان دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود (۳۱-۲۹). اثر درمانی بر بیماری‌های جلدی، عصبی و ادراری تناسلی دارد (۳۱). به عنوان مدر، ضد نفخ و ضد کرم از آن استفاده می‌شود (۳۲). خاصیت ضد کرمی زنیان مربوط به ترکیب تیمول آن است و خاصیت ضد اسپاسم و ضد نفخ آن مربوط به اسانس فرار آن است (۳۰). تعداد ترکیبات موجود در اسانس آن در منابع مختلف بین ۱۱ تا ۱۷ مورد گزارش شده است. همچنین مقدار تیمول موجود در اسانس در منابع مختلف ۳۹/۳، ۴۵/۲ و ۴۱/۷ درصد ذکر گردیده است (۳۱، ۳۳، ۳۴).

بررسی‌های صورت گرفته بر روی این سه گیاه محدود می‌باشد. در مطالعه‌ای، خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی ۲۴ گیاه دارویی از جمله زیره سبز، سیاه و زنیان جمع‌آوری شده از ایران مورد بررسی قرار گرفت، مقادیر IC₅₀ عصاره این گیاهان به ترتیب ۸۲/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۵/۷۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۱۴/۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و مقدار محتوای ترکیبات فنولی کل این ۳ گیاه دارویی به ترتیب ۲/۱۴۰۳ میلی‌گرم بر گرم، ۲/۴۱۴۱ میلی‌گرم بر گرم و ۹/۱۹۱۲ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد (۳۵).

مراجع معتبر صورت گرفت.

مشخصات دستگاه به شرح زیر بود: گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی واریان (Varian) مدل ۳۴۰۰، نوع ستون، دی بی-۵ (DB-5) به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون دمای اولیه ستون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای نهایی ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش‌های ۳ درجه بر دقیقه بود. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل، گاز هلیوم با سرعت خطی ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه بود. سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، زمان اسکن ۱ ثانیه و محدوده جرمی ۳۵۰-۴۰ (AMU: Atomic Mass Unit) بود. اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (RSC: Radical Scavenging Capacity) به کمک ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به سمت زرد تغییر رنگ می‌دهد (۳۷). رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH، در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیر-لامبرت پیروی می‌کنند و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی‌اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد تغییر می‌کند. در این روش برای مقایسه اثر آنتی‌اکسیدان اسانس‌ها از بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT: tert-Butylated Hydroxytoluene) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت با یک میلی‌لیتر از محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط شد و به وسیله متانول ۹۵٪ به حجم ۴ میلی‌لیتر رسید و برای مدت زمان ۶۰ دقیقه در تاریکی تکان داده شد. جذب محلول‌های حاصله و شاهد (حاوی مواد شیمیایی یکسان، به جز نمونه) بعد از این مدت زمان، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد.

درصد RSC به وسیله فرمول زیر محاسبه گردید:

$$RSC (\%) = 100 \times (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}})A$$

blank و A sample، به ترتیب میزان جذب شاهد و نمونه می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها به صورت مقدار IC₅₀ ارائه می‌شود که نشان‌دهنده غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد. این مقدار به وسیله آنالیز همبستگی خطی به دست آمده از مقادیر RSC در غلظت‌های مختلف نمونه تعیین شد. همانطور که گفته شد، نتایج به دست آمده با مقدار IC₅₀ آنتی‌اکسیدان BHT به عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید (۳۸،۳۹).

در نهایت نتایج حاصل از تعیین درصد ترکیبات و خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر گیاه با گیاهان دیگر مقایسه و بررسی شد.

نتایج

خلاصه کلی نتایج حاصل از تفکیک اسانس بذر زیره سیاه، زیره سبز و زنیان بومی استان یزد و شناسایی مواد در جدول ۱ آمده است.

بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس بذر در زیره سیاه، گاماترپنین (۲۱/۸۶ درصد) و در زیره سبز، پروپانال (۲۶/۱۹) و در زنیان ۶ ایزوپروپیل ۳ متیل فنول (۶۴/۹) می‌باشد. کمترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس بذر در زیره سیاه 1-amino-1-ortho-chlorophenyl-2-(2-quinoxaliny) ethane (۰/۳۲ درصد) و در زیره سبز α -pinene (۰/۴۱ درصد) و در زنیان β -pinene (۰/۳۲ درصد) می‌باشد.

قابل ذکر است که در این بررسی بازده اسانس زیره سیاه، زیره سبز و زنیان مورد بررسی استان یزد به ترتیب ۲، ۲ و ۳ درصد بود که عبارت از میزان اسانس استخراج شده (حجم اسانس بر اساس میلی‌لیتر) نسبت به وزن خشک بذر استفاده (به میزان ۱۰۰ گرم) می‌باشد.

در این تحقیق میزان IC₅₀ زیره سیاه، زیره سبز و زنیان بومی استان یزد به ترتیب ۲/۸۵، ۱/۴۹ و ۰/۷۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان ترکیبات فنولی ۱۱۷/۰۹، ۹۰/۲۲ و ۱۶۲/۶۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم تشخیص داده شد.

جدول ۱: مقایسه درصد ترکیبات شناسایی شده در بذور سه گیاه زیره سیاه و زیره و زنیان مورد بررسی

| شماره | ترکیبات | زیره سیاه | زیره سبز | زنیان |
|-------|--|-----------|----------|-------|
| ۱ | Camphene | ۱/۱۶ | - | - |
| ۲ | Para-cymene | ۶/۲۱ | ۴/۲۴ | ۲۱/۷۴ |
| ۳ | 1-limonene | ۲/۴۷ | - | - |
| ۴ | γ -Terpinene | ۲۱/۸۶ | ۱۳/۰۴ | ۱۱/۱ |
| ۵ | Trans-Decalone | ۱/۱۹ | - | - |
| ۶ | Cuminic aldehyde | ۱۷/۲۸ | - | - |
| ۷ | Cyclopentanone | ۱/۴۲ | - | - |
| ۸ | Acetylphenylcarbinol | ۵/۸۲ | - | - |
| ۹ | 1-amino-1-ortho-chlorophenyl-2-(2-quinoxaliny)ethane | ۰/۳۲ | - | - |
| ۱۰ | 5-methyl-2-phenylindolizine | ۰/۴۲ | - | - |
| ۱۱ | Silicic acid | ۰/۵۳ | - | - |
| ۱۲ | 5-nitrobenzofuran-2-carboxylic acid | ۰/۷ | - | - |
| ۱۳ | β -pinene | - | ۷/۲۸ | ۰/۸۶ |
| ۱۴ | 6-isopropyl-3-methyl phenol | - | - | ۶۴/۹ |
| ۱۵ | α -pinene | - | ۰/۴۱ | - |
| ۱۶ | Sabinene | - | ۰/۴۹ | - |
| ۱۷ | β -Myrcene | - | ۰/۶۳ | - |
| ۱۸ | α -phellandrene | - | ۰/۸۳ | - |
| ۱۹ | Pulegone | - | ۲/۵۸ | - |
| ۲۰ | Propanal | - | ۲۶/۱۹ | - |
| ۲۱ | 1-phenyl-1-butanol | - | ۱۶/۴۹ | - |
| ۲۲ | Benzenemethanol | - | ۲۵/۴ | - |
| ۲۳ | Naphthalene | - | ۰/۳۲ | - |
| ۲۴ | α -Cedrene | - | ۰/۵۹ | - |
| ۲۵ | Phthalic acid | - | ۰/۵۲ | - |
| ۲۶ | 1,4-cyclohexadiene | - | ۰/۲۷ | - |

همان طور که در نتایج تست خواص آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}): غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد مهار رادیکالی را سبب می‌شوند و هر چه این مقدار کمتر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌باشد. اسانس سه گیاه برآورد می‌شود، زنیان دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}) برابر با ۰/۷۱۱ میکروگرم در میلی لیتر) و زیره سیاه دارای کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}) برابر با ۲/۸۵ میکروگرم در لیتر) می‌باشد (جدول ۲).

مقدار کل ترکیب‌های فنولی بر اساس مقادیر مختلف جذب اسانس‌های واکنش داده با معرف Follin-Ciocalteu و مقایسه آن با محلول‌های استاندارد گالیک اسید هم ارز به دست آمد. نتایج این آزمایش‌ها برای سه گیاه مورد بررسی با میانگین سه بار تکرار در جدول (۳) آمده است. بالاترین میزان ترکیب‌های فنولی در گیاه زنیان به مقدار ۱۶۲/۶۲ میلی گرم گالیک اسید بر گرم اسانس مشاهده می‌شود.

جدول ۲: مقادیر IC_{50} (میکروگرم بر میلی لیتر)

| نام گیاه | IC_{50} (میکروگرم/میلی لیتر) |
|-----------------|--------------------------------|
| زیره سیاه خرائق | ۲/۸۵ |
| زیره سبز بهاباد | ۱/۴۹ |
| زنیان خرائق | ۰/۷۱۱ |

جدول ۳: مقدار کل ترکیبات فنولی اسانس سه گیاه مورد بررسی

| ردیف | اسانس | مقدار کل ترکیبات فنولی (میلی گرم GA بر گرم اسانس) |
|------|-----------------|---|
| ۱ | زیره سیاه خرائق | ۱۱۷/۰۹ |
| ۲ | زیره سبز بهاباد | ۹۰/۲۲ |
| ۳ | زنیان خرائق | ۱۶۲/۶۲ |

بحث

در این بررسی، بازده هر دو اسانس زیره سیاه، زیره سبز ۲ درصد و در مورد گیاه زنیان ۳ درصد بود.

گاما ترپنین و کومین آلدئید و پاراسیمن و استیل فنیل کربونیل ولیمونن مواد عمده تشکیل دهنده اسانس بذر زیره سیاه بومی استان یزد بودند. این مقادیر نزدیک به نتایج بررسی‌های مشابه روی نمونه‌های زیره سیاه از مناطق دیگر است. در تحقیق Sefidkon و همکاران در مطالعه‌ای از زیره سیاه ۵ منطقه استان کرمان نمونه برداری کرده و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در این مناطق را مقایسه کردند. اصلی ترین ماده تشکیل دهنده اسانس در هر پنج منطقه، گاماترپنین است و بازده اسانس در خاک‌هایی که سیلت و رس بیشتری داشته‌اند، بالاتر است (۴۰).

در بررسی Panwar که ترکیبات اصلی اسانس زیره سیاه در شرایط مزرعه، کومین آلدئید و پارامنتا-۱، ۳-دین-۷-آل و در نمونه‌های طبیعت، گاماترپنین، پاراسیمن و آلدئیدها گزارش شدند (۴۱). گاما ترپنین با فرمول بسته $C_{10}H_{16}O$ یک منوترپن حلقوی است که به نام ۱ و ۴- پارامنتا دی‌ان هم خوانده می‌شود که در بسیاری از اسانس‌های گیاهان تنها یا همراه با ایزمرهای خود وجود دارد. گاماترپنین تاکنون به صورت کاملاً خالص تهیه نشده است. این ترکیب در مقابل هوا با آزادسازی هیدروژن به پاراسیمن تبدیل می‌شود. ترپین‌ها به آسانی در

معرض هوا و نور خورشید به دی‌هیدروکومین آلدئید و کومین آلدئید تبدیل می‌شوند (۳۹). کومین آلدئید با فرمول بسته $C_{10}H_{12}O$ یک منوترپن اکسیژن دار است، از ترکیبات عمده اسانس زیره سیاه و سبز است. کومین آلدئید برای تهیه روغن‌های سنتزی کومین بکار می‌رود. از این روغن‌ها به عنوان طعم‌دهنده در سس‌های پر ادویه و مواد غذایی دیگر استفاده می‌شود (۳۹). در مطالعه‌ای Nikavar و همکاران خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی زیره سیاه نتایج نشان داد که این گونه، دارای $149/91 \mu g \cdot ml^{-1}$ می‌باشد، همچنین TFC (مقدار کل ترکیبات فنولی) $56/92 \mu g \cdot mg^{-1}$ می‌باشد که نسبت به نتایج تحقیق حاضر بسیار خواص آنتی‌اکسیدانی کمتری نشان داد، همچنین مقدار ترکیبات فنولی تقریباً نصف میزان زیره سیاه استان یزد بود (۳۶). همانگونه در نتایج مشخص است در اسانس زیره سبز بومی استان یزد بیشترین ترکیب تشکیل دهنده پروپانول با ۲۶/۱۹ درصد و کمترین ترکیب 1,4-cyclohexadiene با ۰/۲۷ درصد از کل ترکیبات شناسایی شده می‌باشند. در مجموع حدود ۹۵ درصد ترکیبات اسانس بذر زیره سبز استان یزد شناسایی شده‌اند. در بررسی Sharifi میزان ترکیبات اسانس زیره سبز و زیره سیاه مقایسه شد و اعلام نمود که زیره سیاه غنی از گاماترپنین و زیره سبز غنی از گاماترپنین و پاراسیمن می‌باشد (۴۲). در صورتی که در این

پژوهش در زیره سیاه مهمترین ترکیب گاماتریپنین و در زیره سبز مهمترین ترکیب پروپانول بود. نتایج تحقیق Agrawal و همکاران نیز تأیید نمود که ترکیبات اسانس زیره سبز و زیره سیاه مشابه است و اجزاء عمده آنها پاراسیمن و کومین آلدئید می‌باشند (۴۳). تیمول، گاماتریپنین و سایمن مواد عمده تشکیل‌دهنده اسانس بذر زنیان بومی استان یزد بودند که نزدیک به ۹۸ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند. این مقادیر بسیار بالاتر از نتایج بررسی‌های مشابه بر روی نمونه‌های زنیان از مناطق دیگر است. در تحقیق Akbarinia و همکاران میزان تیمول در نمونه‌های زنیان استان قزوین ۴۵-۴۰ درصد بود در صورتی که در مطالعه حاضر میزان این ماده ۶۵ درصد می‌باشد که بسیار بالاتر از نتایج تحقیق مشابه استان قزوین می‌باشد (۴۸). در مقایسه با گونه‌های دیگری که منابع مهم تیمول هستند، مانند اسانس آویشن دنايي *Thymus daenensis* (نمونه گیاهی خراسان) وجود تیمول با ۵۰/۷۱٪ و آنالیز اسانس گونه *Thymus longicaulis* (نمونه گیاهی یونان) حاکی از وجود ۶۰/۸۲٪ تیمول بود و گونه *Pulegioides Thymus* (نمونه گیاهی شمال پرتغال) با ۲۶٪ تیمول و در گونه آویشن کوهی *Zataria multiflora* جمع‌آوری شده از فیروزآباد فارس ۳۷/۵۹٪ تیمول گزارش شده، نیز میزان این ماده بالاتر می‌باشد (۴۳، ۴۴). همانگونه که مشاهده می‌شود ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس زنیان بومی استان یزد ماده با ارزش تیمول می‌باشد که نام دیگر آن 6-isopropyl-3-methyl phenol می‌باشد. با توجه به این درصد بسیار بالا می‌توان از زنیان بومی استان یزد به عنوان منبعی برای تهیه ماده ارزشمند تیمول در آینده استفاده نمود و حتی شرایط استخراج صنعتی آن را برای استفاده در صنایع داروسازی فراهم نمود. چرا که ماده تیمول دارای ارزش زیادی در صنایع دارویی و بهداشتی بوده و از نظر دارویی اثر کاهش‌دهنده در فشارخون دارد و درمان بیماری‌های پوستی مانند آکنه، پسوریازیس و درماتیت همراه با سایر ترکیبات فنولی کاربرد دارد (۴۵). در این تحقیق، همچنان از اسانس‌های مختلف جمع‌آوری شده سه گیاه جهت بررسی خواص

آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل استفاده شد. نتایج به دست آمده از تست خاصیت آنتی‌اکسیدان اسانس بذر زیره سیاه استان یزد نشان داد که این گونه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی خوبی می‌باشد. نتایج این تحقیق نسبت به دو تحقیق مشابه پیشین بر روی اسانس بذر زیره سیاه حاکی از برتری زیره سیاه بومی استان یزد از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در مطالعه‌ای Sourji و همکاران مقدار IC_{50} این گیاه ۵/۷۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، در صورتی که در مطالعه حاضر مقدار IC_{50} ۲/۸۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و همچنین مقدار محتوای ترکیبات فنولی کل عصاره این گیاه دارویی ۲/۱۴۰۳ میلی‌گرم بر گرم عصاره گزارش شد که در مطالعه حاضر مقدار این ترکیبات ۱۱۷/۰۹ میلی‌گرم بر گرم اسانس بود (۳۵).

در مطالعه‌ای Nikavar و همکاران خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی زیره سیاه نتایج نشان داد که دارای IC_{50} ۱۴۹/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس می‌باشد، همچنین TFC (مقدار کل ترکیبات فنولی) ۲۰/۲۱ میلی‌گرم بر گرم عصاره می‌باشد (۳۶).

در مورد گیاه زیره سبز نیز نتایج بررسی خواص آنتی‌اکسیدان در این مطالعه با مقدار IC_{50} ۱/۴۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس، حاکی از برتری خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه در مطالعه Sourji و همکاران دارد (۳۵). همچنین مقدار ترکیبات فنولی با مقدار ۹۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم اسانس مشاهده می‌شود که مقدار این ترکیبات در مطالعات Sharififar و همکاران و همچنین Sivastava و همکاران به ترتیب ۵/۶۹۲ میلی‌گرم بر گرم عصاره و همچنین ۲/۴۱ میلی‌گرم بر گرم عصاره گزارش شده است (۴۵، ۴۷). در مورد زنیان بررسی خواص آنتی‌اکسیدان و میزان ترکیبات فنولی اسانس در مقایسه با گزارشات قبلی با مقادیر IC_{50} ۰/۷۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان ترکیبات فنولی ۱۶۲/۶۲ میلی‌گرم بر گرم اسانس نتایج خوبی را در مطالعه حاضر نشان می‌دهد. نتایج این تحقیق در مجموع در مورد اسانس گیاه دارویی زنیان بومی استان یزد نشان داد که این گیاه دارای مواد ارزشمند دارویی و صنعتی

مطالعات قبلی دارد (۴۰). هر چند که تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی به شدت تحت شرایط محیطی می‌باشد. اما در هر صورت نقش عمده در بیان صفات فیزیولوژیکی گیاه تحت تأثیر ژنوتیپ گیاه می‌باشد، در نتیجه تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه را بسیار تحت تأثیر شرایط محیطی به خصوص استرس‌های زیستی و غیرزیستی می‌دانند (۴۰). در مقایسه خواص آنتی‌اکسیدانی این ۳ گیاه دارویی بومی استان یزد، گیاه زنیان دارای بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی می‌باشد. نتایج این تحقیق نسبت به دو تحقیق مشابه پیشین بر روی اسانس این سه گیاه حاکی از برتری زنیان بومی استان یزد از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی می‌باشد (۴۸،۴۹).

می‌باشد که مهمترین و عمده‌ترین آنها ماده ارزشمند تیمول با درصد بسیار بالایی (۶۵ درصد) نسبت به مطالعات پیشین می‌باشد. از این پس می‌توان از زنیان بومی استان یزد به عنوان منبعی غنی برای تولید تیمول و مواد ارزشمند دیگر اسانس آن استفاده نمود.

نتیجه‌گیری

بازده اسانس زیره سیاه و زیره سبز یکسان (۲ درصد) بود در حالی که در گیاه زنیان مورد (۳ درصد) بود. ترکیبات اسانس در مورد زیره سیاه و زنیان با بررسی‌های پیشین در این زمینه مطابقت دارد. اما در مورد گیاه زیره سبز نوع ترکیبات متفاوت از مطالعات پیشین بود (۳۳،۳۵،۴۶،۴۸). همچنین نتایج بررسی خواص آنتی‌اکسیدان در این مطالعه حاکی از برتری خواص آنتی‌اکسیدانی زیره سبز بومی استان یزد در مقایسه با نتایج

References:

- 1- Hoori M. *Black Caraway (Bunium persicum) organogenesis in culture conditions in vitro*. Tehran: University of Tehran; 2009. [Persian].
- 2- Haghiroalsadat F. *The chemical assessment of seed essence and the Comparison of antioxidant effect among three native medicinal plants of the Yazd province (Bunium persicum Boiss., Cuminum cyminum L., Trachyspermum copticum L.)*. MSC [Thesis]. Shahid Beheshti University; 2010.[Persian]
- 3- Haghiroalsadat F, Bernard F, Kalantar SM, Sheikhha MH, Hokmollahi F, Azimzadeh M, et al. *Bunium persicum (Black Caraway) of Yazd province: Chemical assessment and Evaluation of its Antioxidant Effects*. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2010; 18(4): 284-91.[Persian]
- 4- Ghahreman A. *Iranian color flora*. Tehran: Research institute of forest and rangelands. Vol 2; 1993.p. 1405-11. [Persian]
- 5- Azimzadeh M. *Genetic assessment of Iranian Bunium persicum Boiss using ITS*. PhD[Dissertation]. Tehran: University of Tehran; 2009.p. 81. [Persian].
- 6- Zeinali N. *Recognition, cultivation and culturing of Caraway*. Kerman: Vadiat; 2007.p. 56 [Persian]
- 7- Ranjbarian P, Sadeghian S, Shirazi M, Sarraf-Nejad A, Fazeli M, Amin G, et al. *Antimicrobial properties of four plant essential oils and essences against H.pylori using disc diffusion and flow cytometry methods*. Sci J Med Univ Hamadan 2004; 33(11): 42-47. [Persian]
- 8- Avicenna Sh. *The Canon of medicine*. Tehran: Soroush; 1980. [Persian]

- 9- Boskabady MH, Moghaddas A. *Antihistaminic effect of Bunium persicum on Guinea Pig tracheal chains*. Iran Biomed J 2004; 8(3): 149-55.
- 10- Takayuki S, Mami S, Azizi M, Yoshiharu F. *Antifungal effects of volatile compounds from black Zira (Bunium persicum) and other spices and herbs*. J Chem Ecol 2007; 33(11): 2123-32.
- 11- Syed M, Hanif M, Chaudhary FM, Bhatti MK. *Antimicrobial activity of the essential oils of the Umbelliferae family: Part I. Cuminum cyminum, Coriandrum sativum, Foeniculum vulgare and Bunium persicum oils*. Pakistan J Sci Industrial Res 1986; 29(3): 183-88.
- 12- Hanelt P, Büttner R, Mansfeld R, Kilian R. *Mansfield's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops*. Berlin: Springer; 2001.
- 13- Panda H. *Aromatic plants cultivation, processing and uses*. India: National Institute of Industrial Research; 2004.p. 334.
- 14- Peter KV. *Handbook of herbs and spices*. Florida: CRC Press; 2004.
- 15- Pour-seyedi S. *Assessment of germination and cytology of three Iranian caraway genus: Bunium, Carum and Cuminum*. Tehran: University of Tehran; 1994.p. 89. [Persian].
- 16- Ghasemi N. *Iranian Farm coupe*. Isfahan: Food and drug department.Ministry of health and medical education publication; 2002. [Persian]
- 17- Dehkhoda AA. *Dictionary of Persian words*. Tehran: University of Tehran; 1957.p. 26475. [Persian]
- 18- Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters DA. *Flora europaea*. Cambridge: University Press; 2010.p. 1-5.
- 19- Rechinger KH. *Umbelliferae*. In: Flora Iranica. Graz: Akademische Druck- u. Verlagsanstalt; 1978.p. 140-41.
- 20- Beger F. *Handbuch der drogenkunde*. Wien: Wilhelm Mauderich Verlag; 1952.p. 225.
- 21- List F. *Haer's handbuch der pharmazeutischen praxis*. Berlin: Springer Verlag; 1973.p. 363-65.
- 22- Khory RN, Katrak NN. *Materia medica of India and Therapeutics*. Dehli: Neeray Publishing House; 1985.p. 285-86.
- 23- Evanse WC. *Trease and Evan's Pharmacognosy*. 14 th ed. London: Saunders Company Ltd; 1996. p.267-68.
- 24- Rebey IB, Zakhama N, Karoui IJ, Marzouk B. *Polyphenol composition and antioxidant activity of cumin (Cuminum cyminum L.) seed extract under drought*. J Food Sci 2012; 77(6): 34-9
- 25- Kedia A, Prakash B, Mishra PK, Dubey NK. *Antifungal and antiaflatoxicogenic properties of Cuminum cyminum (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities*. Int J Food Microbiol 2014; 168-69: 1-7.

- 26- Haghiroalsadat F, Vahidi A, Sabour M, Azimzadeh M, Kalantar M, Sharafadini M. *The indigenous cuminum cyminum L. of yazd province: chemical assessment and evaluation of its antioxidant effects*. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2011; 19(4): 472-81. [Persian].
- 27- Haghiroalsadat F, Vahidi AR, Azimzadeh M, Kalantar SM, Bernard F, Hokmollahi F. *Trachyspermum copticum of Yazd province: Chemical assessment of seed essence and its antioxidant effects*. J Rafsenjan Univ Med Sci 2012; 11(3):197-206. [Persian].
- 28- Hedge IC, Lamond JM. *Trachyspermum*. In: Flora Iranica. Graz: Akademishe druk-u. Verlagsanstalt 1987.p. 336-38.
- 29- Mirzavand S. *Evaluation and comparison of Macroscopic, microscopic and phytochemical properties of anise, Foeniculum vulgare and Trachyspermum copticum fruits*. [Thesis]. Isfahan; Isfahan University of Med Sci 1992. [Persian]
- 30- Nadkarinis KM. *Indian Material Medica*. Bombay: Popular Prakashan; 1976.p. 1028 .
- 31- Rojhan MS. *Cure with medicinal plants*. Tehran: Atrak Publication; 1982.p. 126-29.
- 32- Dymock W, Hooper D, Warden CJH. *Pharmacographica India a history of the principal drugs of vegetable origin in British India*. London: Trubner & Co; 1972.p. 118
- 33- Nagulakshmi S, Shankaracharya NB, Naik JP, Rao LJM. *Studies on chemical and technological aspects of ajowan aspects (Trachyspermum ammi)*. J Food Sci Techol Mysore 2000; 37(3): 277-81.
- 34- Krishnamoorth V. mada lagevio MB. *Trachyspermum ammi essential crop for north karnataka*. J Med AromaticPlant Sci 1999;4:996-98 .
- 35- Sour E, Amin G, Farsam H, Barazandeh Tehrani M. *Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts*. DARU 2008; 16(2): 83-87.
- 36- Nikavar B, Abolhasani FA. *Screening of antioxidant properties of seven umbelliferae fruits from Iran*. Pak J Pharm Sci 2009; 22(1): 30-35.
- 37- Foti MC, Daquino C, Geraci C. *Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH radical in alcoholic solutions*. J Org Chem 2004; 69 (7): 2309-14.
- 38- Mimica-Dukić N, Božin B, Soković M, Simin N. *Antimicrobial and antioxidant activities of Melissa officinalis L. (Lamiaceae) essential oil*. J Agric Food Chem 2004; 52(9): 2485-89.
- 39- Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, et al. *Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. Longifolia*. Food Chem 2007; 103(4): 1449-56.
- 40- Sefid kon F, Rahimi Bidgoli A. *Quantitative and qualitative variation assessment of Thymus kotschyanus essence in plant growth duration and using several instillation methods*. J Med Aromatics Plant Res 2002; 15: 1-22. [Persian].

- 41- Panwar KS, Chauhan V. *Agronomic traits differentiation of Bunium persicum under domestication*. Indian Forester 1990; 116(5): 334-35.
- 42- Sharifi M. *Comparative study on essential oils in seed and tissue culture of Cuminum cyminum and Bunium persicum*. MSc[Thesis].Tehran: University of Tehran; 1996. [Persian]
- 43- Agarwal SG, Thappa RK, Dbar KL, Atal CK. *Essential oils of the seeds of Bunium bulbocastanum Linn., Carum gracile Lindle and Cuminum cyminum Linn.* Indian Perfumer 1979; 23(1): 34-37.
- 44- Choriantopoulos N, Kalpoutzakis E, Aligiannis N, Mitaku S, Nychas GJ, Haroutounian SA. *Eleftherios kalpoutzakis. essential oils of satureja, origanum, and thymus species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens*. J Agric Food Chem 2004; 52(26): 8261-67.
- 45- Sivastava M, Saxena A, Baby P. *GC-MS investigation and antimicrobial activity of the essential oil of carum copticum*. Acta Alimentaria 1999 ; 28(3): 291-5.
- 46- Singh JM, Kaith DS. *Variability and correlation studies in some kala zira collecting from Kinnaur (H.P) for some kala zira yield contributing parameters*. Indian Cocoa Arecanut pices J 1991; 14(3):81-82.
- 47- Sharififar F, Moshafi MH, Mansouri SH, Khodashenas M, Khoshnoodi M. *In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zataria multiflora Boiss*. Food Control 2007; 18(7): 800-05.
- 48- Akbarinia A, Sefidkon F, Ghalavand A, Tahmasebi Z, Sharifi A. *Chemical composition of seed essence of Trachyspermum copticum produced in Qazvin Province*. Sci J Med Univ Qazvin 2005; 36(3): 22-25. [Persian].
- 49- Alencar JW, Craveiro AA, Matos FJ. A. *Kovats indices simulation in essential oil analysis*. Quimica nova, 1990; 13:4.

The Chemical Assessment of Seed Essence of Three Native Medicinal Plants of Yazd Province (Bunium Premium, Cuminum Cyminum, Trachyspermum Copticum) and the Comparison of Their Antioxidant Properties

Haghiroalsadat F(PhD Student)¹, Azhdari M(MSc)^{*2}, Oroojalian F(PhD Student)³, Omidi M(PhD Student)⁴, Azimzadeh M(PhD Student)⁵

^{1,3-5}Department of Nanobiotechnology, University of Tehran, Tehran, Iran

²Department of Biochemistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Received: 28 Aug 2013

Accepted: 21 Aug 2014

Abstract

Introduction: Trachyspermum copticum, Bunium persicum and Cuminum cyminum involve the most important medicinal plants in Apiaceae family in Iran which can be observed in different natural habitats of Yazd province. Therefore, these three native medicinal plants of Yazd province were assessed in regard with the components and antioxidant properties of their seed essences.

Methods: In this experimental-lab trial, all experiments were performed in triplicate. The essence of the collected seeds were extracted by hydro-distillation, and fractionated by GC/MS method. Then, the compounds were identified. The DPPH test was used to estimate antioxidant properties. The Follin-Ciocalteu method was applied in order to estimate the quantity of Phenolic compounds.

Results: The analysis revealed that the main components of Trachyspermum copticum were γ -Terpinene, β -pinene, cymene and thymol. Regarding Cuminum cyminum, the main components were propanal, 1-phenyl-1-butanol and benzene methanol. For Bunium persicum, the results revealed that the γ -Terpinene had the highest percentage of the essence. The IC₅₀ of Bunium persicum, Trachyspermum copticum and Cuminum cyminum were 2.85, 1.49 and 0.711 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ and the phenolic component percentage were 117.09, 90.22 and 162.62 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively.

Conclusion: The study results, with respect to antioxidant properties, demonstrated the highest antioxidant properties for Trachyspermum copticum, whereas the lowest antioxidant properties were regarded for Bunium persicum. The highest phenolic components were observed in Bunium persicum, Trachyspermum copticum, and Cuminum cyminum, respectively.

Keywords: Antioxidant test; Bunium persicum; Cuminum cyminum; Essence components; Trachyspermum copticum

This paper should be cited as:

Haghiroalsadat F, Azhdari M, Oroojalian F, Omidi M, Azimzadeh M. *The chemical assessment of seed essence of three native medicinal plants of yazd province (bunium premium, cuminum cyminum, trachyspermum copticum) and the comparison of their antioxidant properties.* J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 22(6): 1592-603.

***Corresponding author: Tel: +98 9131571904, Email: azhdari_mar@yahoo.com**